

PAT-NO: JP360047692A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 60047692 A

TITLE: PRODUCTION OF L-THREONINE BY FERMENTATION

PUBN-DATE: March 15, 1985

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

TSUCHIDA, TAKAYASU

KAWASHIMA, NOBUKI

EI, HITOSHI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

AJINOMOTO CO INC

N/A

APPL-NO: JP58155333

APPL-DATE: August 25, 1983

INT-CL (IPC): C12P013/08

US-CL-CURRENT: 435/115, 435/847

ABSTRACT:

PURPOSE: To produce L-threonine, in high yield, by culturing a microbial strain belonging to Escherichia genus in a medium containing lactose or galactose as main carbon source.

CONSTITUTION: Escherichia coli AJ11332 (FERM-P No.4878), Escherichia coli AJ11334 (FERM-P No.4900) or Escherichia coli AJ11335 (FERM-P No.4901) is used as the threonine-producing strain, and is inoculated in a medium containing lactose or galactose as a main carbon source, and containing xylose, glucose, sucrose, etc. as the subsidiary carbon source, and nitrogen source, inorganic nutrient source and organic nutrient source. A remarkable amount of L-threonine can be produced and accumulated by culturing at 5~8pH and 27~28deg;C under aerobic condition for 1~4 days.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&Japio

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報(A)

昭60-47692

⑫ Int.Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 昭和60年(1985)3月15日
C 12 P 13/08 6971-4B
/(C 12 P 13/08
C 12 R 1:185) 6760-4B 審査請求 未請求 発明の数 1 (全2頁)

⑭ 発明の名称 発酵法によるL-スレオニンの製造法

⑮ 特 願 昭58-155333

⑯ 出 願 昭58(1983)8月25日

⑰ 発 明 者 土 田 隆 康 横浜市戸塚区上倉田町1730-13
⑱ 発 明 者 川 嶋 伸 樹 川崎市川崎区観音2-20-8
⑲ 発 明 者 江 井 仁 逗子市池子2-30-2
⑳ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

明 細 書

1. 発明の名称

発酵法によるL-スレオニンの製造法

2. 特許請求の範囲

エシエリヒア属のL-スレオニン生産能を有する微生物を、ラクトース又はガラクトースを炭素源として含有する液体培地中に培養し、培地中に生成蓄積されたL-スレオニンを採取することとを特徴とする発酵法によるL-スレオニンの製造法。

3. 発明の詳細な説明

この発明は発酵法によるL-スレオニンの製造法に関する。

L-スレオニンは、プレビバクテリウム属、コリネバクテリウム属のコリネ型細菌を使用して、グリコース、シュクロース、酢酸等の炭素源より製造されている。

しかしながら、これらの従来用いられているコリネ型細菌は、ラクトース及びガラクトースのいずれも発化することができない、従って、これら

の糖類を含有する乳ホエイ等の安価な原料を使用してL-スレオニンを製造することはできなかった。

叙上の様な従来のL-スレオニンの製造法に対し、本発明者らは、エシエリヒア属の微生物よりラクトース⁷⁸はガラクトースを炭素源として高い収率でL-スレオニンを生成する能力を有する菌株を育種することに成功し、本発明を完成するに至った。

本発明において使用されるエシエリヒア属のL-スレオニン生産能を有する微生物としては、具体的には、

エシエリヒア・コリアJ 11332(FERM-P484⁷⁸4⁷⁸)、

エシエリヒア・コリアJ 11334(FERM-P4900)、

エシエリヒア・コリアJ 11335(FERM-4901)がある。

エシエリヒア・コリアJ 11332(FERM-P4878)

はα-アミノ-β-ヒドロキシ吉草酸(以下AHUと略す)に耐性を有する変異株として既に知られているものであり(特公昭45-26709)、通常の人工変異操作をエシエリヒア属の微生物に

施すことにより得られる。一方、エシェリヒア・コリ-AJ11334 (FERM-P4900) および AJ11335 (FERM-P4901) は α -アミノ- β -ヒドロキシ吉草酸に耐性を有する変異株より得た L-スレオニン生合成に関与する遺伝情報を担うデオキシリボ核酸を組み込んだプラスミドを含有する L-スレオニン生産菌株として既に知られているものであり (特公昭55-131397)、組換え DNA 法により得られる。

エシェリヒア・コリ AJ11332 (FERM-P4878) とエシェリヒア・コリ AJ11334 (FERM-P4900) およびエシェリヒア・コリ AJ11335 (FERM-P4901) の育種過程は特開昭55-131397 公報に記載されている。

上記のようなエシェリヒア属の L-スレオニン生産能を有する微生物を培養する際に使用される培地は、ラクトース又はガラクトースを炭素源として含有する以外は、特に変わったものではない。ラクトース及びガラクトースとして、これらを含む乳ホエイ、大豆ホエイ等を使用してもよい。

これらの炭素源のほかに、副炭素源としてキシロース、グルコース、シュクロース、マルトース等が培地に含まれていることもある。炭素源のほかにアンモニウムイオン、アンモニアガス、アンモニア水等の通常の窒素源、リン酸イオン、マグネシウムイオン、カリイオン等の無機イオン、更に必要によりビタミン、アミノ酸等の有機栄養素が培地中に含まれる。

培養は好気的条件下で行われる。培養の間、培養温度は 27℃ ないし 37℃ の範囲内の適当な温度に、培地の pH は、5.0 から 8.0 の範囲の適当な pH に、それぞれ保つのが望ましい。かくして、1 ないし 4 日間も培養を続ければ培地中に著量の L-スレオニン生成蓄積される。

培地中に蓄積された L-スレオニンを採取するには通常の方法で行うことができる。

実施例 1

炭素源 3%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1%, KH_2PO_4 0.2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, Fe^{2+} 2ppm, Mn^{2+} 2ppm サイアミン塩酸塩 1mg/l, L-プロリン 300mg/l, L-イソ

ロイシン 100mg/l, L-メチオニン 100mg/l, CaCO_3 2% (KOH により、pH 7.0 に調整) を 20ml ずつ坂口フラスコに分注し、各種菌体を接種後 37℃、70 時間最盛培養を行なった。第 1 表に示すように、ラクトース、ガラクトースより高い収率で L-スレオニンの蓄積を認めた。

第 1 表

炭 素 源	菌 株	L-スレオニン (g/l)
ラクトース	AJ11332	2.75
	AJ11334	6.01
	AJ11335	8.10
ガラクトース	AJ11332	2.30
	AJ11334	5.23
	AJ11335	6.48
乳ホエイラクトースとして添加	AJ11332	2.80
	AJ11334	6.32
	AJ11335	8.36